

霊長類 iPS 細胞を用いた心筋再生研究

柴 祐司

信州大学 医学部 再生医科学教室

【研究の背景】

虚血性心疾患は我が国だけでなく世界的にも主要な死亡原因である。心臓は自己再生能力に乏しく、一旦傷害された心機能は現状の治療法では回復が不可能である。そこで心筋梗塞後心不全に対する新たな治療法として、多能性幹細胞を用いた再生医療の可能性が注目されている。

【目 的】

多能性幹細胞を用いた再生医療を実用化するためにいくつかの課題が残されており、本研究では、ヒトに近いカニクイザルモデルを使って以下の二つの課題を解決する。

- 1) 慢性心筋梗塞モデルにおける有効性の証明
- 2) 移植後不整脈のリスクコントロール

【方 法】

- 1) 慢性心筋梗塞モデルにおける有効性の証明

私たちは、5 頭のカニクイザルから線維芽細胞を採取し、未分化 iPS 細胞を樹立した。本研究では、これらの未分化 iPS 細胞から、アクチビン A、BMP-4 を使って心筋細胞を作製し、凍結保存する。作製した心筋細胞と同一の個体であるカニクイザルに対して、開胸下で左前下行枝を結紮し 3 時間後に再灌流することにより心筋梗塞モデルを作製する。

- 2) 移植後不整脈のリスクコントロール

私たちは、カニクイザル iPS 細胞から心筋細胞を作製し、カニクイザル心筋梗塞モデルに移植したところ、心室性頻拍(VT)が有意に増加することを世界で初めて明らかとした。iPS 細胞由来心筋細胞には心筋再生に必要な心室筋細胞だけでなく、ペースメーカー細胞が混入することが知られているが、心室筋細胞だけを特異的に誘導する方法は知られていなかった。私たちは、心室筋細胞のみを特異的に純化する技術を開発した。ヒト iPS 細胞由来心室筋細胞をカニクイザル心筋梗塞モデルに移植し、同じプロトコールでペースメーカー細胞を含む心筋細胞を移植した場合と比較して、移植後不整脈が抑制できるか Holter 心電図により検討する。

【結 果】

- 1) 慢性心筋梗塞モデルにおける有効性の証明

移植心筋細胞を宿主心臓の中で同定するために、作製した iPS 細胞に GFP 遺伝子導入を行った。遺伝子導入により iPS 細胞の性質に変化がないよう、CRISPR-Cas9 を使って AAVS-1 領域特異的な遺伝子導入を行った。遺伝子改変カニクイザル iPS 細胞から心筋細胞を作製し、移植用凍結ストックの保存を行った。

2) 移植後不整脈のリスクコントロール

ヒト iPS 細胞から心筋細胞を作製し、さらに心室筋細胞を純化した。虚血再還流によるカニクイザル心筋梗塞モデルを作製し、2 週間後に 2×10^7 の心室筋細胞を直接注射により移植した。現在移植後不整脈について Holter 心電図を用いて解析中である。

【考 察】

iPS を用いた心筋再生医療を実用化するために、霊長類を用いた二つの前臨床試験を行った。慢性心筋梗塞における有効性の証明試験では、自己細胞を用いた試験であるため、ホスト心臓の中で移植細胞を同定するために、GFP 遺伝子の導入を行った。遺伝子導入 iPS 細胞株から心筋細胞の作製を行い、今後移植試験を開始する予定である。移植後不整脈のリスクコントロール試験では、心室筋細胞の純化に成功し、移植試験を開始し、現在不整脈の解析中である。今後、二つの試験によって、臨床応用が開始されることが期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

様々な治療法の進歩にもかかわらず、心不全患者は今後も増加することが予想され、重症心不全患者に対する新しい治療法の開発が求められている。iPS 細胞を用いた心筋再生医療が期待されているが、未だに実現されていない。本試験は、心筋再生を実現化・実用化するために重要な試験であり、試験結果が注目される。